

1.1 INTRODUCCIÓN



La idea de este proyecto nace de la necesidad de una aplicación informática que facilite el trabajo realizado por algunos investigadores del Centro Oceanográfico de Málaga (Instituto Español de Oceanografía)¹, concretamente en la tarea de toma de medidas de determinadas muestras y posterior almacenamiento y clasificación de estos datos.

Cuando hablamos de muestras nos referimos a finas preparaciones (50-100 micras de grosor) de los otolitos que queremos estudiar, convenientemente fijadas a un portaobjetos que será lo que visualicemos por el microscopio.

¿Y qué es un otolito? Los otolitos son estructuras calcáreas que forman parte del oído interno de los peces y cuya función está relacionada con el equilibrio y la audición. Se forman por deposición de carbonato cálcico y proteína en su superficie y crecen, a distinto ritmo según las condiciones, a lo largo de toda la vida de los individuos. El material depositado cristaliza formando anillos, cuyo grosor y opacidad están relacionados con las tasas de deposición y el contenido de proteína. Estas tasas de crecimiento serán superiores cuando hay buena alimentación y condiciones externas óptimas para el crecimiento e inferiores cuando las condiciones ambientales y/o fisiológicas no sean buenas. Una sección del otolito que pase por el centro nos da una superficie que muestra los anillos de crecimiento desde el centro (momento del nacimiento) hasta el borde (momento de su muerte). Así, el otolito funciona como una "caja negra" que registra todos los acontecimientos que influyen en su crecimiento, ya que el tamaño del otolito es proporcional a la talla del pez. Por esto, observar y medir los anillos de crecimiento es necesario para relacionar los cambios en esta estructura con acontecimientos internos (reproducción por ejemplo) o externos (estaciones del año, cambios de temperatura, etc.). Relacionar estos anillos con acontecimientos "conocidos" así como su enumeración son tareas necesarias para asignar edades a los peces, primero a nivel individual y posteriormente a nivel poblacional. Conocer la edad de los peces es básico para la aplicación de modelos de dinámica de poblaciones explotadas y poder gestionar la pesca correctamente.

Según el grosor de las muestras y la ampliación de la imagen observamos fenómenos a distinta escala de tiempo en los otolitos. Muestras de unas 300-500 micras a 8-40 aumentos (microscopio estereoscópico) ofrecen cambios en el otolito a escala estacional y muestras más finas (50-100 micras) a más aumentos (de 200 a 1000 aumentos en un microscopio óptico) ofrecen una visión de la deposición a nivel diario.

La base científica sobre la que se apoya todo el proyecto proviene de los estudios realizados por David K. Stevenson y Steven E. Campana (Otolith Microstructure Examination and Analysis, en 1992)². Haciendo un breve resumen, ya que no es nuestro cometido profundizar en este tema sino en sus conclusiones, diremos que se ha probado que se pueden contabilizar anillos diarios en la microestructura de los otolitos gracias a los avances en la tecnología de los microscopios.

Con esta pequeña introducción cerramos el proceso de investigación, que comienza con la captura del espécimen (el momento de la muerte equivaldría al último anillo diario), continúa con la extracción del otolito, el siguiente paso es de gran importancia y sería la

¹Instituto Español de Oceanográfico

²Stevenson & Campana, 1992

preparación de la muestra (procesos de inclusión en resina, corte de la sección y posterior pulido), y ya pasamos a la cadena microscopio, cámara, ordenador y aplicación informática para terminar con el almacenamiento en bases de datos para posteriores observaciones del investigador, como se observa en la Figura 1.



Figura 1.- Proceso completo de investigación

El punto exacto donde la ingeniería apoya a la biología se encuentra entonces en la conexión hardware-software de la cámara del microscopio, con el ordenador en el que ejecutaremos nuestra aplicación de captura, procesamiento y tratamiento de imágenes, con posteriores cálculos estadísticos y obtención de resultados que serán guardados en bases de datos.

Nos basaremos en programas que ya existen como OTO 3.0³ y en el software de la cámara QImaging MicroPublisher 3.3 RTV⁴, para crear una aplicación que se acerque más a las exigencias de los beneficiarios de este proyecto. Y uno de los puntos claves radica en comenzar a salirse de la mera observación para entrar en el campo de la interpretación, buscando siempre que la tecnología facilite el trabajo del investigador. Para expresarlo de forma más comprensible, la observación básica es la que hace un biólogo que tiene que contar casi manualmente los anillos del otolito a través del microscopio, mientras que una interpretación avanzada consistiría en que la aplicación contase los anillos por sí misma y diera resultados fiables, pudiéndose aprovechar las ventajas de la computación, como la velocidad de cálculo para conseguir datos estadísticos complejos.

³OTO 3.0

⁴QImaging

Esto es apuntar muy alto para los comienzos en los que se encuentra este proyecto, que por ahora trata de encontrar un punto medio utilizando un modo manual en el que el técnico hace el trabajo de conteo, y un modo automático en el que la aplicación contrasta el trabajo del investigador con los resultados obtenidos tras el procesamiento de las imágenes. Dependiendo de la fidelidad de estas comparativas entre lo que observa el investigador y lo que le calcula la aplicación, se llegará a un acuerdo en el que el factor humano vaya dejando paso a la automatización, conservando siempre lo bueno de cada parte.

Ya se ha hablado de consideraciones concernientes a la biología, pero para ir entrando en detalles técnicos e ingenieriles, decir que el lenguaje de programación que se ha elegido para desarrollar la aplicación es C++, ya que las librerías de la cámara que toma imágenes directamente del microscopio están escritas en este lenguaje. Como entorno de desarrollo se ha elegido asimismo el Microsoft Visual Studio 2008⁵, y dentro del propio lenguaje C++ se escogió una de las formas de más alto nivel de programación, como son los Formularios de Windows, que por ejemplo proporcionan al usuario interfaces mucho más estilizadas hablando en términos de diseño.

Para finalizar esta introducción, decir que concretamente este proyecto de fin de carrera se ha realizado como actividad de colaboración entre la ETSI y el Instituto Español de Oceanografía (Centro Oceanográfico de Málaga) con el título "Análisis de la microestructura de otolitos mediante imágenes en vivo" (de ahí el nombre de la aplicación informática que más tarde se confirmará como OTOLIVE, literalmente de "otolitos en vivo"). Las bases de esta colaboración vienen recogidas en un anexo al Convenio Marco de colaboración entre la Universidad de Sevilla y el Instituto Español de Oceanografía (IEO), firmado el 25 de octubre de 2011.

Los participantes de la entidad colaboradora (IEO) son:

- Dr. Alberto García García, Jefe de Programa de Pesquerías del Mediterráneo (Tutor)
- Dña. Lourdes Fernández Peralta, Técnico Especialista de Investigación del Área de Investigación Pesquera del IEO (Colaborador)
- D. Javier Rey Sanz, Contratado Laboral como Técnico de Grado Medio del Programa Nacional de Datos Básicos (PNDB) (Colaborador)

⁵Microsoft Visual Studio 2008